

UNIVERSITE PARIS VAL DE MARNE
FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

ANNEE 1971

N°

37

THESE
POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

PAR

CORNEL R O T A R U

Né le 11 février 1924 à TOP (ROUMANIE)

PRESENTÉE ET SOUTENUE LE :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES CATECHOLAMINES URINAIRES

DANS L'HYPERTENSION ARTERIELLE

Président de Thèse Professeur GUYGOU

UNIVERSITE PARIS VAL DE MARNE
FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

ANNEE 197 4

N°

THESE
POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

PAR

CORNEL R O T A R U

Né le 11 février 1924 à TOP (ROUMANIE)

PRESENTEE ET SOUTENUE LE :

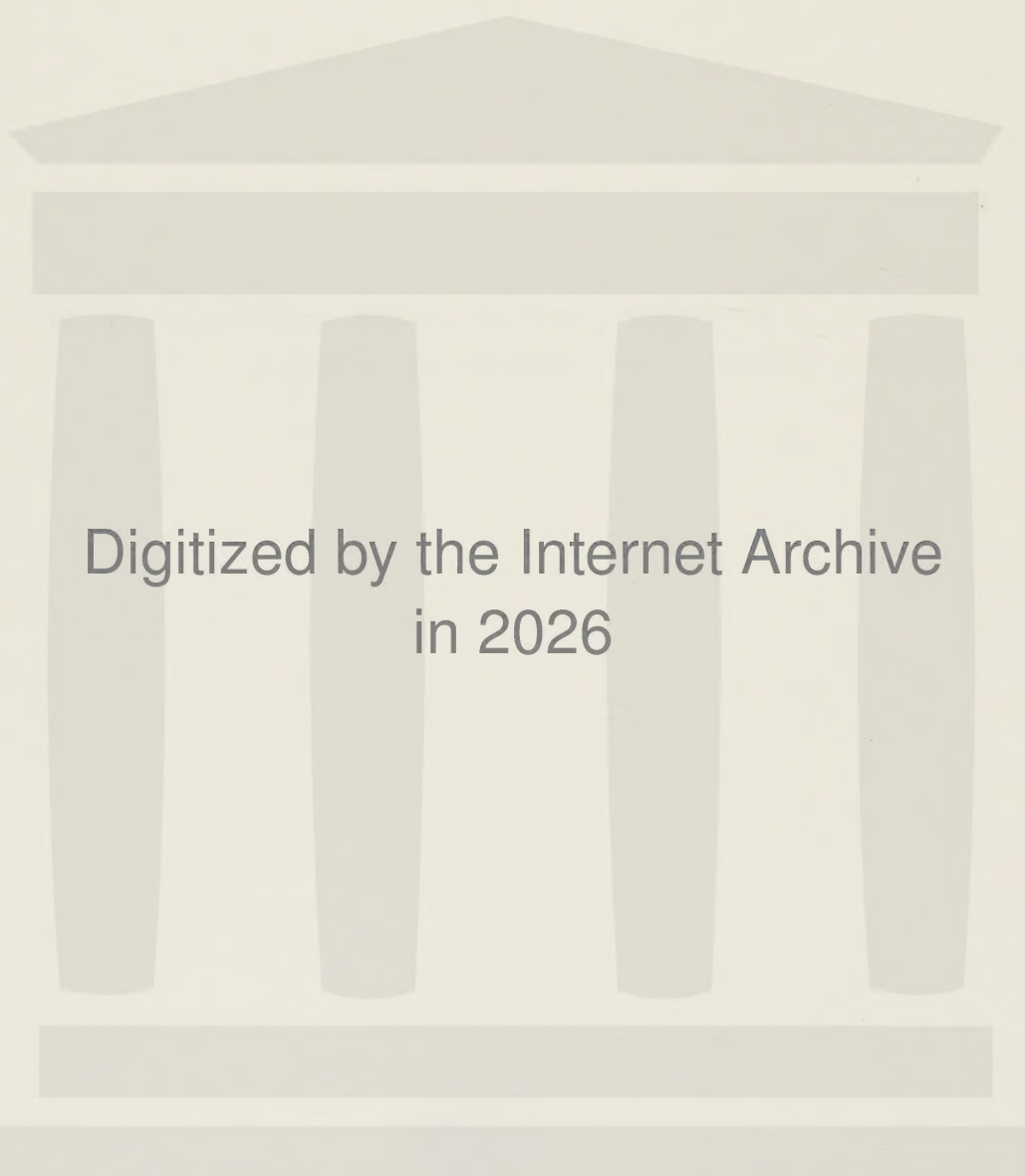
CONTRIBUTION A L'ETUDE DES CATECHOLAMINES URINAIRES

DANS L'HYPERTENSION ARTERIELLE

Président de Thèse Professeur GOUYGOU



À mon épouse, dont le soutien constant m'a permis
de passer mes examens et de soutenir cette thèse.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550415_0016

Ce travail a été réalisé dans les laboratoires
de l'Institut de Pharmacologie Espagnole de Madrid sous la
direction de Messieurs les Professeurs G. MARANON, H. VELASQUEZ
et J. TAMARIT de 1956 à 1957.

S O M M A I R E

PARTIE THEORIQUE

- I - Introduction et bref rappel physico-chimique et pharmacologique des catécholamines
 - Adrénaline
 - Noradrénaline
 - Propriétés physiques et chimiques
 - Propriétés pharmacologiques
- II - Biosynthèse des catécholamines
- III - Circulation, destruction et élimination des catécholamines
- IV - Méthodes de détermination de catécholamines

PARTIE EXPERIMENTALE

- V - Détermination des courbes de calibration de l'Adrénaline et de la Noradrénaline
 - Technique et calcul de la quantité de catécholamines
- VI - Recherche de catécholamines dans les urines de 24 h
 - Extraction
 - Détermination colorimétrique
 - Calcul des facteurs de calibration pour les amines totales et pour la noradrénaline
 - Calcul de l'écart type
- VII - Détermination de catécholamines dans les urines de 24 h de personnes présumées saines
- VIII - Détermination de catécholamines dans les urines de 24 h de personnes ayant une H. T. A.
- IX - Conclusions
- X - Bibliographie

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES CATECHOLAMINES URINAIRES

DANS L'HYPERTENSION ARTERIELLE

PARTIE THEORIQUE

Les catécholamines sont des substances qui ont en commun le noyau du catéchol et une chaîne latérale aminée. Elles comprennent l'adrénaline, la noradrénaline et la dopamine.

Dans cette étude, nous nous limiterons à l'adrénaline et à la noradrénaline.

I - Bref rappel physico-chimique et pharmacologique des catécholamines

a) L'adrénaline

Amine primaire bien connue tant dans son aspect chimique que physiologique et pharmacologique. Nous essaierons seulement de préciser ses différences avec la noradrénaline.

Pendant longtemps on a cru que l'adrénaline était la substance sympathicomimétique par excellence et que c'était le principal élément de la transmission chimique de l'influx nerveux. On l'a considérée comme une hormone sécrétée par les glandes surrénales ayant pour mission la régulation de la circulation sanguine et le maintien de la tension artérielle à un niveau adéquat tant dans les conditions physiologiques que pathologiques.

Les recherches ultérieures ont démontré qu'elle n'était pas la seule substance intervenant dans la régulation de la circulation et de la tension artérielle. La noradrénaline, la dopamine et la sérotonine ont un effet sur la circulation et sur la tension artérielle.

Aujourd'hui, on considère l'adrénaline surtout comme une hormone à action métabolico-circulatoire.

b) La noradrénaline

Synthétisée par Stoll en 1904, la noradrénaline fut considérée pendant longtemps comme une substance sans importance pour l'organisme. Son étude prit de l'intérêt avec les études de Von Euler, Holtz et d'autres auteurs qui ont mis en évidence sa présence dans les divers humeurs de l'organisme des animaux et de l'homme.

La noradrénaline est une substance très proche de l'adrénaline dont elle se distingue par sa chaîne latérale sans groupe méthylque.

c) Propriétés Physiques et Chimiques

A l'état pur les catécholamines se présentent sous forme de cristaux blancs qui se conservent très bien à basse température et à l'abri de la lumière. En solution aqueuse et à la température ambiante entre 16 et 25° C les catécholamines perdent progressivement leur activité et, à 100° C, ont perdu toute activité. Dans les conditions normales les catécholamines sont très hydrosolubles, mais cette solubilité diminue très nettement après 24 heures de conservation à l'étuve (37° C).

Les catécholamines étant des dérivés d'oxyphénoliques, s'oxydent facilement en présence de l'oxygène et des ions de métaux lourds. Cette oxydation est encore plus grande en milieu alcalin. Par contre, en milieu acide, les catécholamines se conservent assez bien.

Dans l'organisme, on pense que les catécholamines s'oxydent lentement parce qu'elles sont liées à une fraction protéique qui les protège.

d) Propriétés pharmacologiques

Une étude comparative des effets de l'adrénaline et de la noradrénaline sur l'organisme humain nous conduit au tableau suivant :

TABEAU N° 1

Effets de l'adrénaline et de la noradrénaline sur l'organisme humain.

<u>Organe</u>	<u>Adrénaline</u>	<u>Noradrénaline</u>
<u>Coeur</u>		
- rythme	tachycardie	bradycardie
- volume de pulsation	augmenté	peu influencé
- volume minute	très augmenté	peu influencé
- circulation coronaire	augmentée	augmentée
<u>Tension artérielle</u>		
- systolique	élevée	élevée
- diastolique	normale ou diminuée	élevée
- moyenne	peu modifiée	élevée
<u>Vaisseaux</u>		
- Peau	vaso-contriction	vaso-contriction
- Territoire splanchnique	contriction	contriction
- Muscles squelettiques	dilatation	contriction
<u>Résistance circulatoire</u>		
- Peau	élevée	élevée
- Muscles du squelette	diminuée	élevée
- Totale	diminuée	élevée
<u>Musculature lisse</u>	très paralysée	légèrement paralysée
<u>Oeil</u>	mydriase active	mydriase active
<u>Métabolisme</u>		
- consommation d'O ₂	augmentée	normale ou peu augmentée
- consommation d'énergie	très augmentée	normale
- glucose sanguin	augmenté	légère augmentation
- potassium sanguin	augmenté	normal
- éosinophilie	augmentée	normale

<u>Etat subjectif</u>	très altéré	normal ou peu altéré
<u>Ganglions autonomes</u>	effet inhibiteur	effet inhibiteur
(fin du tableau n° 1)		

En général, on peut dire que les effets de l'adrénaline et de la noradrénaline sont dus à leurs propriétés en tant que stimulants des récepteurs α et β .

La noradrénaline étant la substance qui agit par excellence sur les récepteurs α et qui se traduit par :

- une vaso-constriction,
- des effets gastro-intestinaux
salivaires
pilo-moteurs
d'excitation utérine.

L'Isoprénaline est prise comme type de stimulant des récepteurs β et se traduit par :

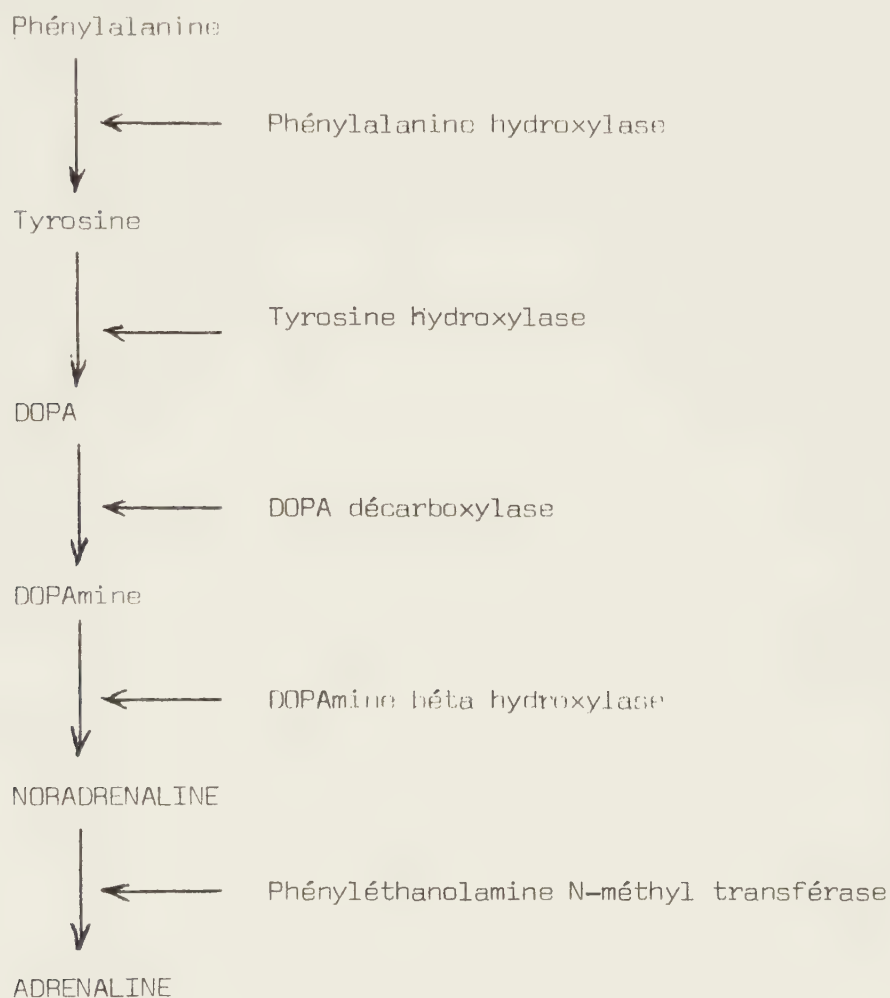
- une vaso-dilatation,
- une action inotrope et chronotrope positive,
- une broncho-dilatation,
- une relaxation utérine,
- une stimulation de la lipolyse.

L'adrénaline possède à la fois la propriété de se comporter comme un stimulant des récepteurs α et des récepteurs β et ses effets sont de type α et β .

II - Bio-synthèse des catécholamines

La bio-synthèse des catécholamines se fait principalement au niveau de la médullo-surrénale et des terminaisons nerveuses sympathiques à partir d'un acide aminé, la phénylalanine. Pour d'autres auteurs comme UDENFRIEND et COOPER (1952), le point de départ réel est la tyrosine, hypothèse confirmée par l'injection de tyrosine marquée et l'isolement de noradrénaline marquée dans les glandes surrénales.

A partir de la phénylalanine et par des étapes intermédiaires dans lesquelles interviennent plusieurs enzymes on aboutit à la formation de l'adrénaline :



Mais, les glandes surrénales ne représentent pas l'unique endroit de formation des catécholamines ; celles-ci se trouvent en grande quantité dans le système nerveux central, dans les ganglions et les fibres post-ganglionnaires et les terminaisons sympathiques tandis que les fibres post-ganglionnaires parasympathiques n'en possèdent pas.

BRUCKE, KAIND et MAYER (1952) supposent qu'il existe un centre régulateur de la sécrétion des catécholamines dans l'hypothalamus. Ces auteurs en 1952 avaient observé que la stimulation de certaines régions de l'hypothalamus entraînait une élévation du taux de catécholamines dans les veines surrenaliennes entre 11 et 50 pour cent, fait qui ne se produisait pas après ligature des carotides.

A titre personnel, nous avons effectué des dosages des catécholamines dans les glandes surrénales de quelques animaux de laboratoire pour lesquels nous avons utilisé la méthode d'extraction de WEST, SHEPARD et HUNTER (1951). Dans tous les cas, nous avons utilisé des glandes fraîches, immédiatement après la mort de l'animal et les deux glandes en même temps, mais au lieu de l'éthanol nous avons utilisé l'acide trichloracétique, ce qui nous a permis de disposer d'un extrait final libre de protéines.

Le taux de catécholamines a été déterminé par la méthode de Von EULER et HAMBERG (1949) avec les résultats suivants :

ANIMAL	NOMBRE DE CAS	AMINES TOTALES	ADRENALINE	NORADRENALINE
Cobaye	21	393,64	278,96	114,81
Rat	6	1 177,86	840,88	336,98
Lapin	3	751,53	570,26	181,27
Chat	4	1 552,79	1 035,71	517,08

III - Circulation, destruction et élimination des catécholamines

Dans le sang, on trouve un taux de noradrénaline inférieur à un micro-gramme par litre et un taux entre zéro et 0,25 micro-gramme par litre d'adrénaline.

Si l'on injecte une dose déterminée de noradrénaline par voie intraveineuse on observe qu'elle disparaît rapidement de la circulation. Une fraction de la catécholamine injectée est stockée dans les organes les plus vascularisés comme la rate, le coeur et le cerveau et dans les organes qui possèdent une riche innervation sympathique (BURN, RAAB et HUMPHREYS - 1947).

La disparition des catécholamines de la circulation s'explique par ce stockage d'une part et par la dégradation et l'élimination de celles-ci par l'urine.

La dégradation des catécholamines dans l'organisme s'effectue grâce à l'intervention de deux mécanismes enzymatiques. L'oxyméthylation sous la dépendance de la catéchol-O-Méthyl-Transférase (C.O.M.T.) qui a pour mission de fixer un groupe méthoxy sur l'une des fonctions phénol de catécholamines les transformant en métadrénaline ou en méthoxynoradrénol.

Dans une deuxième étape, ces produits oxyméthylés sont transformés en acide 3-Méthoxy 4-Hydroxymandélique, grâce à l'intervention d'une monoamino-oxydase. C'est sous cette dernière forme que l'on trouve la majeure partie des catécholamines dans les urines et en moindre quantité sous forme libre.

IV - Méthode de détermination de la quantité de catécholamines

Diverses méthodes sont utilisées pour la détermination des catécholamines et nous ne ferons que les énumérer :

- la méthode biologique,
- la méthode chromatographique,
- la méthode colorimétrique,
- la méthode fluorimétrique,
- la méthode isotopique.

Dans nos expériences, nous avons adopté la méthode d'extraction de U.S. von EULER et S. HELLNER (1951) et la méthode de von EULER et U. HAMBERG (1949) pour la détermination colorimétrique des catécholamines urinaires.

Pour le calcul quantitatif des catécholamines urinaires, il faut prendre en considération trois facteurs :

- 1) le facteur de calibration de l'adrénaline que nous désignons par les lettres "af" et le facteur de calibration de la noradrénaline que nous désignons par les lettres "nf".
- 2) la quantité relative de noradrénaline oxydée dans les conditions de pH.4 notée avec la lettre n_0 .
- 3) les lectures "a" et "b" qui seront notées après avoir fait la moyenne de valeurs lues dans l'appareil "Beckmann" ou "Lumétron".

Si nous posons : E = Adrénaline

N = Noradrénaline,

nous obtenons les équations suivantes qui nous donneront la quantité de noradrénaline et d'adrénaline en microgrammes :

$$E = \frac{af (a - n_0 b)}{I - n_0} \quad N = \frac{nf (b - a)}{I - n_0} \cdot$$

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Détermination des courbes de calibration

Nous avons commencé nos expériences par l'établissement des courbes de calibration de l'adrénaline et de la noradrénaline. A cet effet, nous avons employé des solutions injectables ou des substances pures contenant 1 000 microgrammes de substance active par millilitre et par gramme.

a) Technique et calcul

- 1 - Dissolution d'un milligramme de substance pure dans dix millilitres d'eau bidistillée, ce qui nous donne une solution à cent microgrammes par millilitre.
- 2 - A partir de cette solution, nous avons pris des quantités progressives allant de 0,1 à 1,0 ml. que nous avons mis dans une série de 11 tubes, le onzième étant le tube témoin comme nous l'indiquons dans la grille que nous donnons à la suite. On complète avec de la solution tampon (acétate sodique N + acide acétique N) de l'iode et du thiosulfate de sodium à 10 ml. Nous obtenons des solutions contenant de 1 à 10 microgrammes par millilitre.

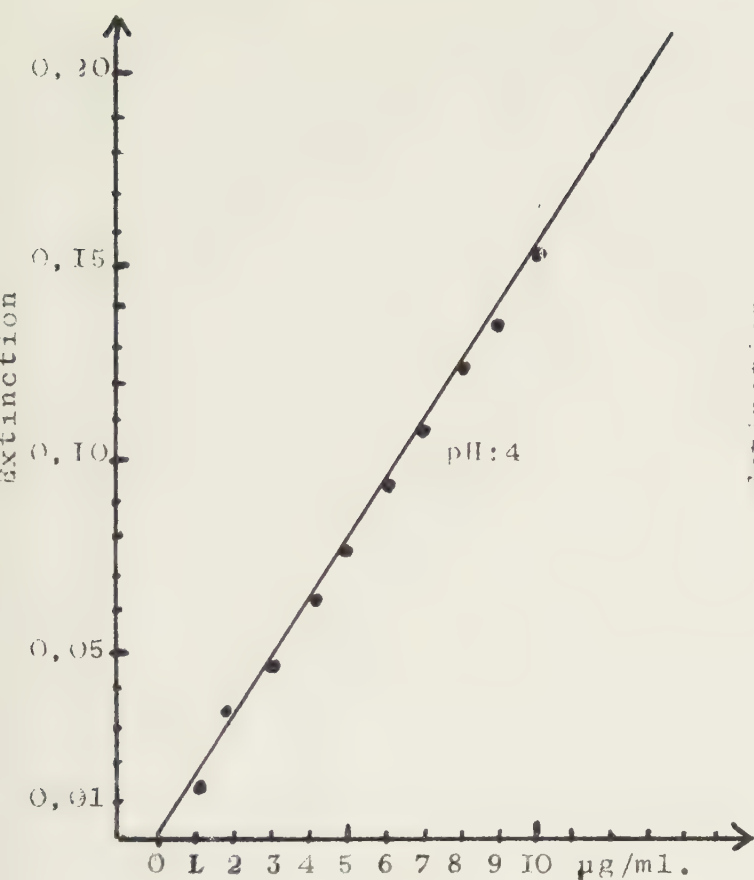
La même échelle de valeurs a été utilisée pour les catécholamines à pH.4 et pH.6 (voir graphiques 1, 2, 3, 4).

GRILLE ETALON POUR LA DETERMINATION DES COURBES DE CALIBRATION

DE L'ADRENALINE ET DE LA NORADRENALINE

TUBE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	T
SOL. ADR.	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,0
SOL. TAMPON	9,35	9,25	9,15	9,05	8,95	8,85	8,75	8,65	8,55	8,45	8,65
IODE	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	-
THIOSULF. SODIQUE	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35

Suivent les graphiques 1, 2, 3 et 4.



Graphique N° 1.

Adrénaline (HCl) à pH:4

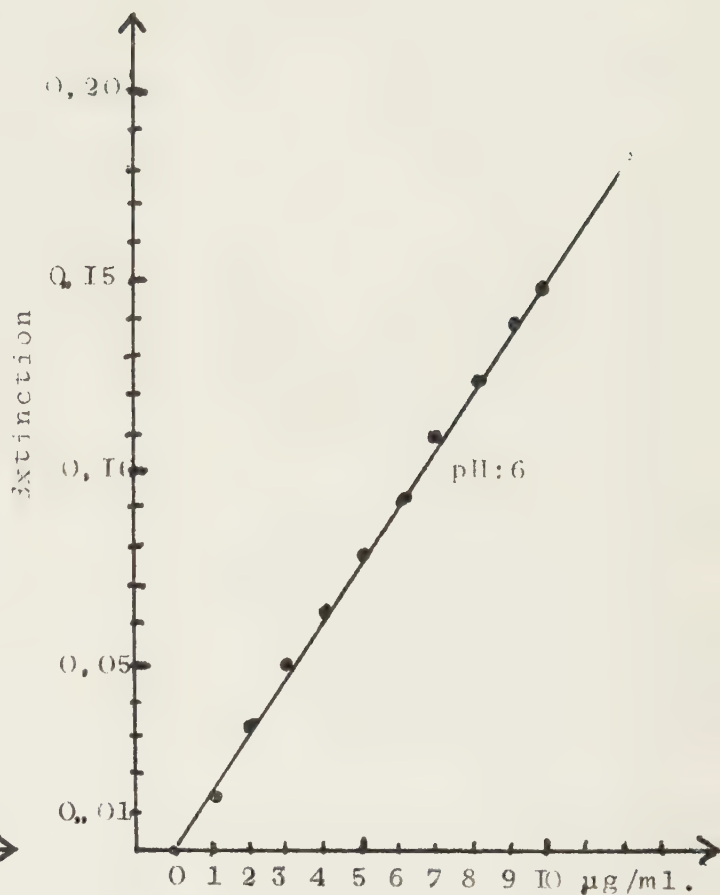
Temps d'oxydation:90 sec.

Points:Extinction lue dans
l'appareil;

Droite: Droite théorique des
extinctions.

α =Pente angulaire =0,0153

% d'oxydation = 100 %



Graphique N° 2.

Adrénaline (HCl) à pH:6

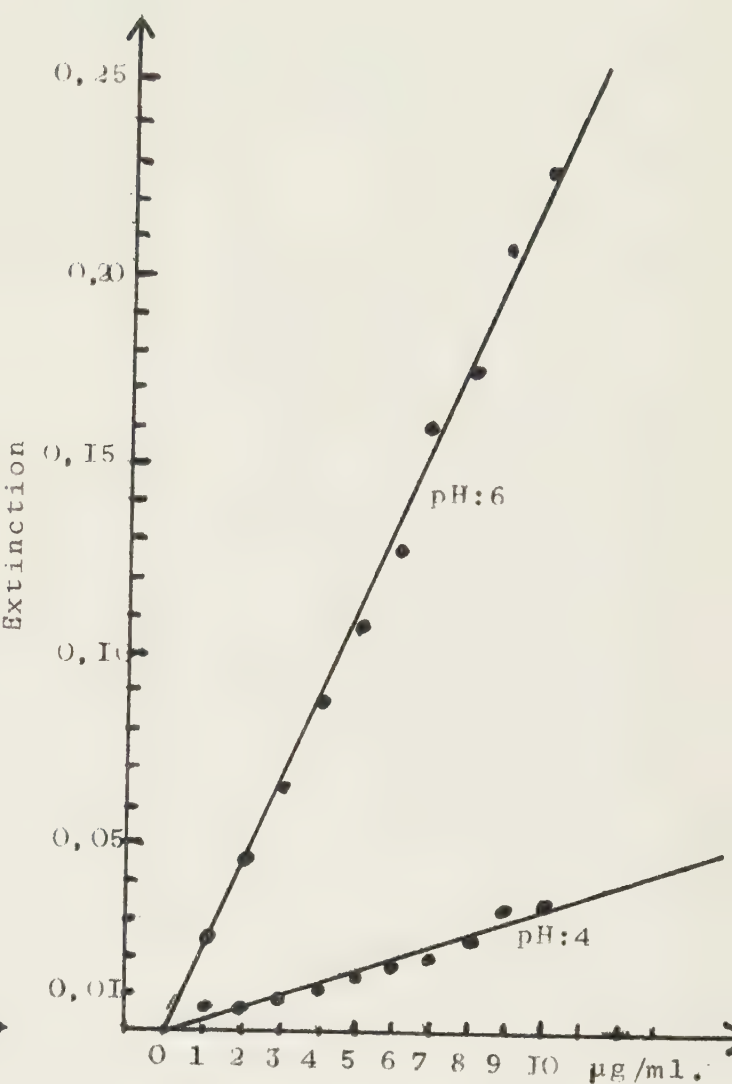
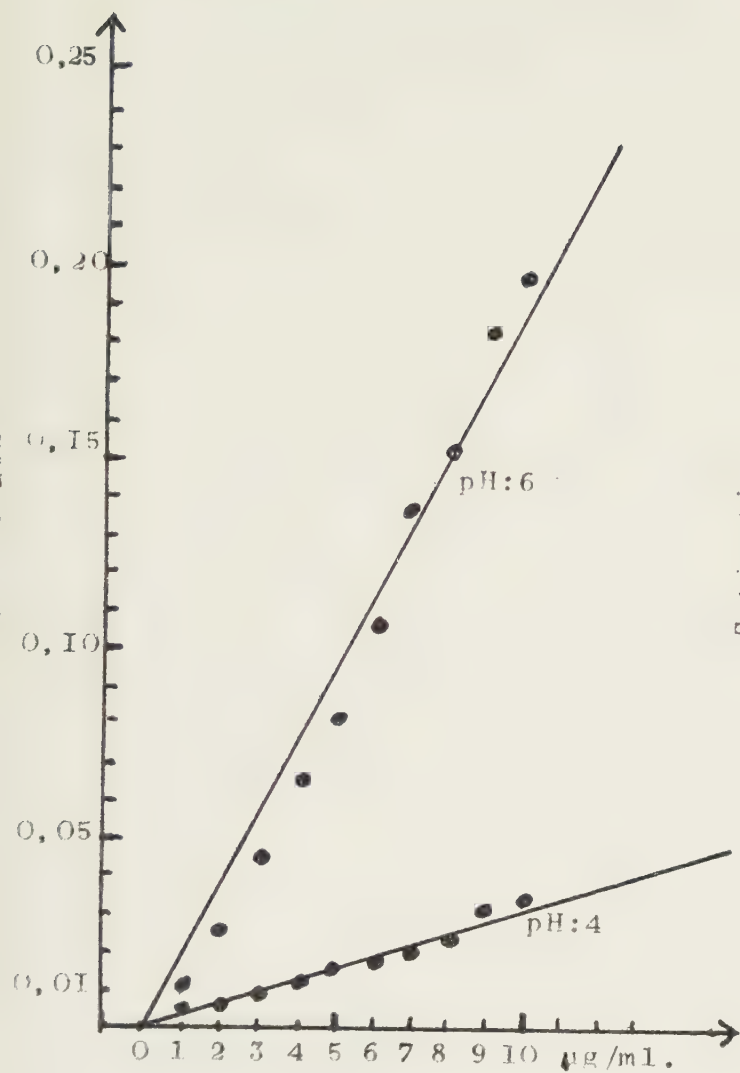
Temps d'oxydation : 180 sec.

Points:Extinction lue dans
l'appareil.

Droite : Droite théorique des
extinctions.

α =Pente angulaire =0,0153

% d'oxydation = 100 %



Graphique N° 3.

Noradrénaline (HCl) à pH:4 et 6

Temps d'oxyd. à pH:4 = 90 sec.

à pH:6 = 180 sec.

Points: Extinction lue dans
l'appareil.

Droite: Droite théorique des
extinctions.

:Pente angulaire = pH:4 = 0,0031

pH:6 = 0,0190

% d'oxydation à pH:4 = 16,32.

Graphique N° 4.

Noradrénaline (HCl) à pH:4 et 6

Temps d'oxyd. à pH:4 = 90 sec.

à pH:6 = 180 sec.

Points: Extinction lue dans
l'appareil.

Droite: Droite théorique des
extinctions.

:Pente angulaire = pH:4 = 0,0031

pH:6 = 0,0220

% d'oxydation à pH:4 = 14,09

Equation de la droite et de la pente angulaire

Si nous posons : y = extinction ou densité optique

x = quantité de catécholamines/ml

α = pente angulaire

nous obtenons les équations suivantes :

$$y = a \times \quad (A)$$

$$\alpha = \frac{\sum yx}{\sum x^2} = \frac{\sum yx}{385} \quad (B)$$

$$x = 1, 2, 3 \dots 9, 10 \quad \sum x^2 = 1^2 + 2^2 + 3^2 + \dots 9^2 + 10^2 = 385$$

Pour une plus grande **précision**, nous donnons les extinctions optiques trouvées dans la pratique avec le spectromètre Beckmann et Lumetron à côté des extinctions optiques calculées théoriquement.

Dans toutes ces courbes

$\underline{E}$ = extinction lue dans l'appareil

$\underline{E_c}$ = extinction théorique calculée

$\underline{T_{oxyd.}}$ = temps d'oxydation

COURBE DE CALIBRATION N° 1. Adrénaline (HC1) à pH 4 et pH 6

pH 4 $T_{oxyd.} = 90 \text{ sec.}$			pH 6 $T_{oxyd.} = 180 \text{ sec.}$		
x/ml	E	E_c	x/ml	E	E_c
1	0,0154	0,0153	1	0,0154	0,0153
2	0,0338	0,0306	2	0,0315	0,0306
3	0,0457	0,0459	3	0,0481	0,0459
4	0,0619	0,0612	4	0,0604	0,0612
5	0,0772	0,0765	5	0,0783	0,0765

Courbe de Calibration n° 1 (suite)

x/ml	E	E _C	x/ml	E	E _C
6	0,0942	0,0918	6	0,0909	0,0918
7	0,1079	0,1071	7	0,1095	0,1071
8	0,1220	0,1224	8	0,1220	0,1224
9	0,1366	0,1377	9	0,1396	0,1377
10	0,1518	0,1530	10	0,1505	0,1530
$\alpha = 0,0153$			$\alpha = 0,0153$		

COURBE DE CALIBRATION N° 2. Noradrénaline (HC1) à pH 4 et pH 6

pH 4 T _{oxyd.} = 90 sec.			pH 6 T _{oxyd.} = 180 sec.		
x/ml	E	E _C	x/ml	E	E _C
1	0,0048	0,0031	1	0,0087	0,0190
2	0,0061	0,0062	2	0,0259	0,0380
3	0,0087	0,0093	3	0,0457	0,0570
4	0,0109	0,0124	4	0,0675	0,0760
5	0,0154	0,0155	5	0,0809	0,0950
6	0,0177	0,0186	6	0,1079	0,1140
7	0,0195	0,0217	7	0,1366	0,1330
8	0,0241	0,0248	8	0,1505	0,1520
9	0,0305	0,0279	9	0,1830	0,1710
10	0,0324	0,0310	10	0,1979	0,1900
$\alpha = 0,0031$			$\alpha = 0,0190$		

COURBE DE CALIBRATION N° 3. Noradrénaline (HC1) à pH 4 et pH 6

pH 4 $T_{\text{oxyd.}} = 90 \text{ sec.}$			pH 6 $T_{\text{oxyd.}} = 180 \text{ sec.}$		
x/ml	E	E_c	x/ml	E	E_c
1	0,0048	0,0031	1	0,0213	0,0220
2	0,0061	0,0062	2	0,0428	0,0440
3	0,0078	0,0093	3	0,0614	0,0660
4	0,0109	0,0124	4	0,0851	0,0880
5	0,0154	0,0155	5	0,1051	0,1100
6	0,0177	0,0186	6	0,1260	0,1320
7	0,0195	0,0217	7	0,1567	0,1540
8	0,0241	0,0248	8	0,1739	0,1760
9	0,0305	0,0279	9	0,2041	0,1980
10	0,0324	0,0310	10	0,2247	0,2200
$\mathcal{L} = 0,0031$			$\mathcal{L} = 0,0220$		

COURBE DE CALIBRATION N° 4. Noradrénaline (HC1) à pH 4 et pH 6

pH 4 $T_{\text{oxyd.}} = 90 \text{ sec.}$			pH 6 $T_{\text{oxyd.}} = 180 \text{ sec.}$		
x/ml	E	E_c	x/ml	E	E_c
1	0,0078	0,0057	1	0,0213	0,0187
2	0,0132	0,0114	2	0,0338	0,0374
3	0,0177	0,0171	3	0,0496	0,0561

Courbe de Calibration n° 4 (suite)

x/ml	E	E _c	x/ml	E	E _c
4	0,0259	0,0228	4	0,0675	0,0748
5	0,0273	0,0285	5	0,0925	0,0935
6	0,0352	0,0342	6	0,1146	0,1122
7	0,0385	0,0399	7	0,1307	0,1309
8	0,0462	0,0456	8	0,1487	0,1496
9	0,0506	0,0513	9	0,1739	0,1683
10	0,0579	0,0570	10	0,1884	0,1870
$\alpha = 0,0057$			$\alpha = 0,0187$		

Des courbes de calibration antérieures nous avons déduit qu'il était possible de déterminer la quantité de catécholamines dans les urines de 24 heures par la méthode colorimétrique de von FULLER et HAMBERG.

L'adrénaline, avec un temps d'oxydation de 90 secondes s'oxyde totalement à pH = 4 et à pH = 6 et les courbes de calibration se superposent pratiquement (voir graphiques n° 1 et 2).

La noradrénaline, avec un temps d'oxydation de 90 secondes à pH = 4 et de 180 secondes à pH = 6 donne des courbes de calibration différentes (voir les graphiques n° 3 et 4).

La noradrénaline en solution aqueuse à $\text{pH} = 4$ et un temps d'oxydation de 90 secondes s'oxyde dans un 14,09 % ; avec un temps d'oxydation de 180 secondes à $\text{pH} = 6$ le pourcentage d'oxydation augmente à 32,94 %.. Ces chiffres ont été obtenus en faisant la moyenne des valeurs trouvés dans nos expériences.

RECHERCHE DE CATECHOLAMINES DANS LES URINES DE 24 HEURES

EXTRACTION

Méthode de von EULER et HELLNER (1951) modifiée ainsi :

- 1) On ramasse les urines de 24 heures dans des récipients contenant de l'acide sulfurique 2 N en proportion telle que l'urine ait un pH acide inférieur à 4.
- 2) Conservation des urines de 24 heures en chambre froide à + 4° C.
- 3) Détermination de la diurèse.
- 4) On prélève 600 ml des urines de 24 heures.

Purification

- 1) Addition d'acide sulfurique 2 N pour donner à l'urine un pH = 3.
- 2) Addition de 0,883 ml de Sulfate d'Aluminium à 20 g./100 ml d'urines.
- 3) Addition de NaOH 2 N goutte à goutte avec agitation continue jusqu'à ce que le pH soit compris entre 8,5 et 10 et la formation de l'hydroxyde d'Aluminium soit complète.
- 4) On laisse sédimenter le précipité en chambre froide pendant une demi-heure environ.
- 5) On filtre le précipité.
- 6) Lavage du précipité deux fois avec de l'eau distillée.
- 7) Dissolution du précipité par l'acide sulfurique 2 N.
- 8) Ajustement du pH de la solution à 3,5 avec NaOH 2 N.

- 9) Addition de 5 volumes d'ethanol et d'acétone à parties égales pour précipiter les sels.
- 10) On place la solution en chambre froide pendant une heure.
- 11) Filtration.
- 12) Evaporation du filtrat sous vide pour réduire le volume de façon qu'un millilitre d'extrait final corresponde à 25 ou 30 millilitres des urines de 24 heures utilisées pour l'extraction, soit 20 à 24 millilitres d'extrait final.

Hydrolyse

- 1) Ajustement du pH entre 1 et 2 avec l'acide sulfurique 2 N.
- 2) On chauffe au bain-marie à 100° C pendant 20 minutes.
- 3) On laisse refroidir à la température ambiante.
- 4) Dernière filtration de l'extrait pour le débarrasser de certaines impuretés insolubles.

L'extrait final ainsi obtenu est prêt pour la préparation de la solution et la détermination colorimétrique.

Modifications apportées à la méthode de von EULER et HELLNER pour l'extraction des catécholamines urinaires. Justifications.

- 1) Au lieu de faire l'extraction de 300 ml nous avons travaillé sur 600 ml d'urines de 24 heures pour avoir plus de catécholamines dans l'extrait final.
- 2) Nous avons additionné seulement 0,883 ml de sulfate d'Aluminium à 20 g/100 ml d'urines au lieu de 1 ml ayant observé qu'avec 1 ml/100 ml d'urines la filtration de celles-ci s'avérait difficile.

- 3) Nous avons utilisé NaOH 2 N au lieu de NaOH 0,5 N pour réduire le volume de l'urine et faciliter les opérations ultérieures.
- 4) Nous portons le pH de l'urine à un pH compris entre 8,5 et 10, car l'expérience nous a montré que la formation de l'alumine n'était complète que dans cette zone limitée de pH et que un pH supérieur à 10,5 - 11 le précipité d'alumine commençait à se redissoudre.
- 5) Nous additionnons 5 volumes d'éthanol et d'acétone à parties égales, car autrement on avait des précipités dans les tubes pendant la lecture spectrométrique.

DETERMINATION COLORIMETRIQUE

Nous avons adopté à cette fin la méthode de von EULER et HAMBERG (1949) avec quelques modifications que la pratique nous avait conseillé.

Méthode définitive

- 1) Disposition d'une série de 6 tubes.
- 2) Complétons à 10 ml les tubes avec :
 - a - dans tous les tubes 2 ou 3 ml d'extrait sulfurique final.;
 - b - dans les tubes 1 et 2 nous additionnons 6,45 ml. de solution tampon d'acétate sodique N et acide acétique N, tamponnée à pH = 4 et la même solution mais à pH = 6 et en même quantité dans les tubes 4 et 5.
Dans les tubes témoins 3 et 6, nous ajoutons 6,65 ml de solution tampon à pH = 4 pour le tube 3 et à pH = 6 pour le tube 6.
 - c - addition de 0,2 ml de solution d'iode employée comme oxydant dans les tubes 1, 2, 4 et 5.
Pas d'iode dans les tubes 3 et 6.
 - d - on chronomètre 90 secondes pour les tubes 1 et 2 et 180 secondes pour les tubes 4 et 5, ce qui correspond au temps d'oxydation de l'adrénaline à pH 4 et de la noradrénaline à pH 6.
 - e - addition de 0,35 ml de la solution de thiosulfate sodique 0,05 N, après le temps d'oxydation dans les six tubes.
 - f - lecture dans les cinq minutes qui suivent l'addition du dernier réactif.

Les tubes 1 et 2 nous donneront les extinctions "a" pour l'adrénaline ; les tubes 4 et 5 les extinctions "b" de la noradrénaline.

Modifications introduites dans la méthode de von EULER et HAMBERG.

Justifications.

- 1) Nous mettons dans chaque tube 2 ou 3 ml d'extrait sulfurique final au lieu de 0,5 ml afin de disposer d'une quantité plus importante de catécholamines urinaires.
- 2) Nous additionnons une quantité telle de solution tampon que le contenu de chaque tube soit de 10 ml après l'addition de l'iode et du thiosulfate sodique ce qui facilite la lecture et le calcul.

Voici le type de grille que nous avons utilisé :

GRILLE TYPE pour la détermination colorimétrique de
catécholamines urinaires.

SOLUTION	pH = 4 Adrénaline			pH = 6 Noradrénaline		
TUBE	1	2	3	4	5	6
EXTRAIT URINAIRE	3	3	3	3	3	3
SOL. TAMPON	6,45	6,45	6,65	6,45	6,45	6,65
IODE	0,2	0,2	-	0,2	0,2	-
THIOSULF. SODIQUE	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35

CALCUL DES FACTEURS DE CALIBRATION

Nous appelons facteur de calibration le nombre qui, multiplié par l'extinction optique, nous donne la quantité totale de catécholamines existantes dans le système pour un volume constant de 10 millilitres.

A cet effet, il faut distinguer deux facteurs de calibration :

- 1) un facteur de calibration à pH = 6 qui est commun aux deux amines puisque leur oxydation est complète à ce pH.
- 2) un facteur de calibration à pH = 4. L'adrénaline s'oxydant complètement à pH = 4 possède le même facteur de calibration qu'à pH = 6. Par contre, la noradrénaline ne s'oxydant que partiellement à pH = 4 possède un facteur de calibration distinct.

Les résultats d'une série de vingt expériences pour le calcul du facteur de calibration de la noradrénaline à pH = 4 et pH = 6 sont exposés dans le tableau n° 7 et dans le graphique n° 5.

Pour le calcul numérique des facteurs de calibration à pH = 4 et pH = 6 nous sommes partis de la base que le facteur de calibration est l'inverse de la constante angulaire donnée par l'équation d'une droite passant par l'origine d'un système cartésien.

$$y = \alpha x \quad \text{d'où} \quad \alpha = \frac{\sum y x}{\sum x^2} \quad (1)$$

En introduisant dans l'équation (1) les extinctions optiques à pH = 4 et pH = 6 (E_4 et E_6), l'équation (1) se transforme en

$$\text{à pH} = 4 \quad \alpha = \frac{\sum x E_4}{\sum x^2} \quad \text{et à pH} = 6 \quad \alpha = \frac{\sum x E_6}{\sum x^2} \quad (2)$$

et en calculant l'inverse de alpha à pH = 4 et pH = 6 nous trouvons les facteurs de calibration correspondants.

Si nous désignons par :

A	=	Adrénaline
N	=	Noradrénaline
A _t	=	Amines totales
af	=	facteur de calibration à pH = 4
nf	=	facteur de calibration à pH = 6
n ₀	=	quantité de noradrénaline oxydée à pH = 4
E ₄	=	extinction à pH = 4
E ₆	=	extinction à pH = 6

nous obtenons les équations de von EULER et HAMBERG pour le calcul numérique des catécholamines dans les urines.

$$A_t = A + N = af \cdot E_6 \quad (3)$$

$$N = \frac{af (E_6 - E_4)}{I - n_0} \quad (4)$$

$$A = \frac{af (E_4 - n_0 E_6)}{I - n_0} \quad (5)$$

Les valeurs trouvés dans nos expériences sont :

$$af = 931,9438$$

$$n_0 = 0,1020$$

que nous introduisons dans les équations (3), (4) et (5) qui se transforment en :

$$A_t = 931,9438 \cdot E_6 \quad (6)$$

$$N = 1\,037,7993 \cdot (E_6 - E_4) \quad (7)$$

$$A = 1\,037,7993 \cdot (E_4 - 0,1020 \cdot E_6) \quad (8)$$

Les valeurs de A_t, N et A calculées selon les équations antérieures sont résumées dans le tableau n° 2.

TABLEAU N° 2. Calcul des facteurs de calibration de la noradrénaline
et des amines totales en solution sulfurique.

x/ml	E ₄	E ₆	x E ₄	x E ₆
10	0,0008	0,0070	0,0080	0,0700
10	0,0008	0,0114	0,0080	0,1140
20	0,0017	0,0172	0,0340	0,3440
20	0,0026	0,0222	0,0520	0,4440
30	0,0021	0,0277	0,0630	0,8310
30	0,0043	0,0329	0,1290	0,9370
40	0,0026	0,0381	0,1040	1,5240
40	0,0052	0,0443	0,2080	1,7720
50	0,0030	0,0491	0,1500	2,4550
50	0,0061	0,0555	0,3050	2,7750
60	0,0039	0,0594	0,2340	2,5940
60	0,0070	0,0665	0,4200	3,9900
70	0,0043	0,0700	0,3010	4,9000
70	0,0101	0,0783	0,7070	5,4810
80	0,0048	0,0814	0,3840	6,5120
80	0,0136	0,0899	1,0880	7,1920
90	0,0052	0,0942	0,4680	8,4780
90	0,0154	0,1040	1,3860	9,3600
100	0,0056	0,1040	0,5600	10,4000
100	0,0172	0,1140	0,7200	11,4000

$$\sum x^2 = 77\,000 ; \quad \sum x E_4 = 8,4290 ; \quad \sum x E_6 = 82,6230$$

$$\alpha = \text{p H : 4} = 0,000109467532$$

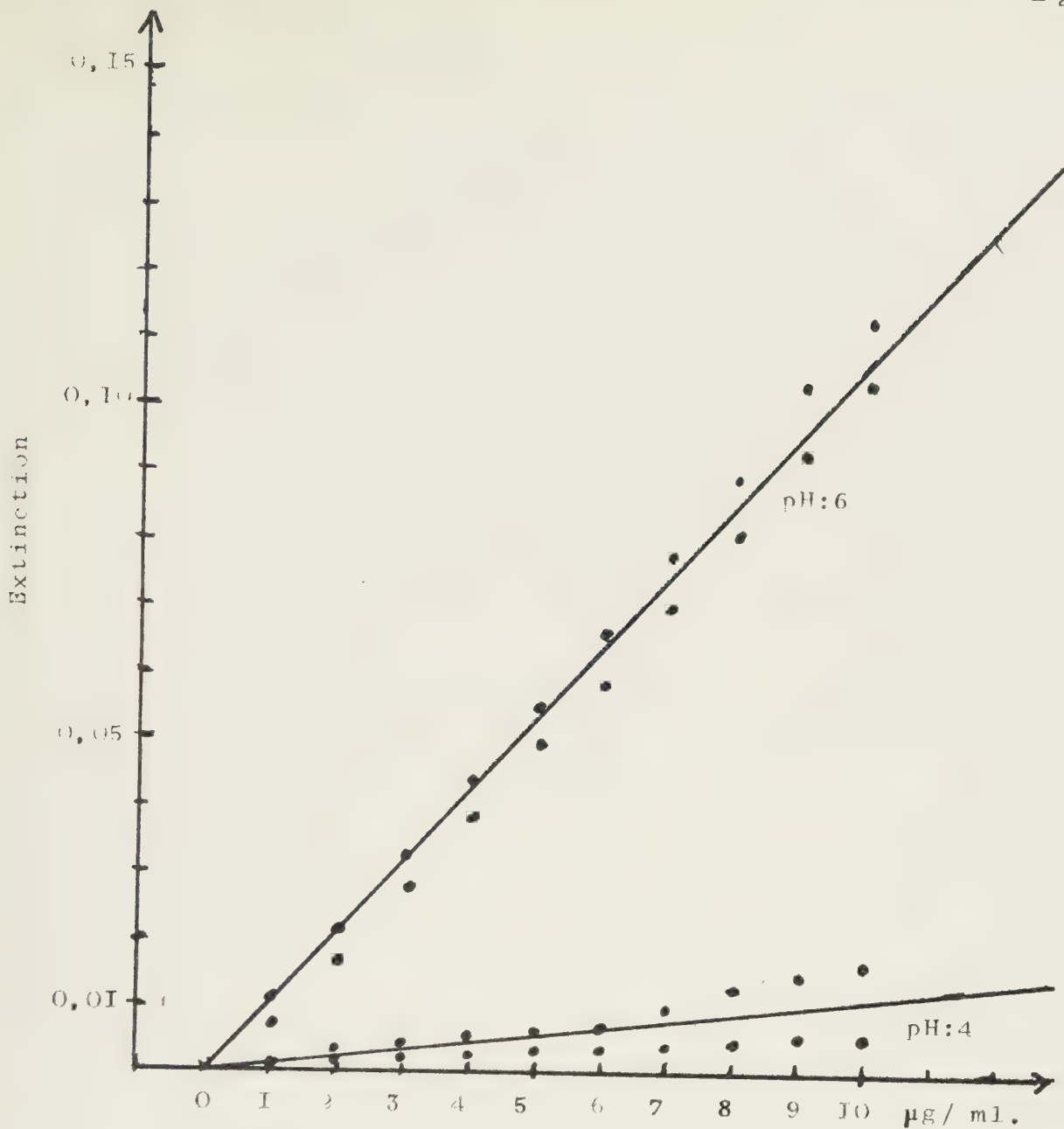
$$\text{p H : 6} = 0,001073025974$$

$$\% \text{ d'oxyd. Noradrén. à pH = 4} = 10,20$$

$$\text{Facteur de calibration à pH : 4} = 931,9438$$

$$\text{Facteur de calibration à pH : 6} = 9\ 135,1287$$

Suit le graphique n° 5



Graphique N° 5.

Noradrénaline bitartrate en solution sulfurique calculée en noradrénaline chlorhydrate. Double lecture à 15 minutes d'intervalle, la solution étant préparée pour la lecture.

Temps d'oxydation à pH:4 = 90 sec.

à pH:6 = 180 sec.

:Pente angulaire = à pH:4 = 0,000109467532

à pH:6 = 0,001073025974

% d'oxydation à pH:4 = 10,20

Points : Extinction lue dans l'appareil.

Droite : Droite théorique des extinctions.

CALCUL DE L'ECART TYPE

Pour ce calcul nous avons tenu compte :

- des valeurs réelles de catécholamines dans la solution problème, valeurs connues en préparant les solutions = V_r .
- des valeurs calculées selon les formules (6), (7) et (8) = V_c .
- de la somme des carrés des différences et
- du nombre d'expériences, d'où

$$r = \sqrt{\frac{\sum (V_r - V_c)^2}{n}} \quad (9)$$

TABEAU N° 3. Quantité d'amines totales et de noradrénaline dans des solutions contenant de l'adrénaline et de la noradrénaline. Calcul de l'écart type.

V_r		V_c		$(V_r - V_c)^2$	
A_t	N	A_t	N	A_t	N
10	10	6,52	6,43	12,1104	12,7449
10	10	10,62	11,00	0,3844	1,0000
10,27	1,27	11,84	1,56	2,4649	0,0841
10,81	3,81	11,28	3,53	0,2209	0,0784
11,35	6,35	11,84	6,85	0,2401	0,2500
11,89	8,89	11,00	8,20	0,7921	0,4761
12,43	11,43	11,28	10,79	1,3225	0,4096

Tableau n° 3 (suite)

A_t	N	A_t	N	A_t	N
20,00	-	21,71	1,25	2,9241	1,5625
20,00	20,00	16,03	16,09	15,7609	15,2881
20,00	20,00	20,69	20,34	0,4761	0,1156
20,54	20,54	19,76	0,62	0,6084	9,9856
21,08	5,08	20,32	2,91	0,5776	4,7089
21,62	7,62	20,69	7,06	0,8649	0,3136
22,16	10,16	20,69	7,99	2,1609	4,7089
22,70	12,70	20,69	10,79	4,0405	3,6481
23,24	15,24	20,32	11,73	8,5264	12,3201
23,78	17,78	18,08	12,87	32,4900	24,1081
24,32	20,32	20,32	18,71	16,0000	13,0321
24,86	22,86	20,04	18,89	23,2324	15,7609
25,40	25,40	20,32	21,79	25,8064	13,0321
30,00	30,00	25,81	26,57	17,5561	11,7649
30,00	30,00	30,66	29,68	0,4356	0,1024
40,00	40,00	35,51	36,84	20,1601	9,9856
40,00	40,00	41,29	40,58	1,6641	0,3364
50,00	50,00	45,76	47,84	17,9776	4,6656
50,00	50,00	51,72	51,27	2,9584	1,6129
60,00	60,00	55,82	58,12	17,4724	3,5344
60,00	60,00	61,97	61,75	3,8809	3,0625
70,00	70,00	65,24	68,18	22,6576	3,3124

Tableau n° 3 (suite)

A_t	N	A_t	N	A_t	N
70,00	70,00	72,97	70,78	8,8209	0,6084
80,00	80,00	75,86	79,50	17,1396	0,2500
80,00	80,00	83,78	79,18	14,2884	0,6724
90,00	90,00	87,79	92,36	4,8841	5,5696
90,00	90,00	96,92	91,95	47,8864	3,8025
100,00	100,00	96,92	102,12	9,4864	4,4944
100,00	100,00	106,24	100,46	38,9376	0,2116

$n = 36$

Somme (différences)² amines totales = 397,2097

Somme (différences)² noradrénalines = 186,6137

Ecart type : amines totales = 3,32

noradrénalines = 2,27

Dans une autre série d'expériences avec solution chlorhydrique et dans les mêmes conditions nous avons trouvé des résultats semblables. L'écart type sur une série de 25 expériences a été de 1,82.

Mais, dans la détermination quantitative de catécholamines urinaires nous avons constamment utilisé les facteurs de calibration et l'écart type des solutions sulfuriques puisque pour la conservation des urines de 24 heures l'agent conservateur était l'acide sulfurique-2 N en proportion telle que l'urine présentait un pH compris entre 1,5 et 4.

- 32 -

DETERMINATION DE CATECHOLAMINES DANS LES URINES DE 24 HEURES

DE PERSONNES PRESUMÉES SAINES

Une fois habitués à la méthode de von EULER et HAMBERG et après avoir introduit les modifications citées antérieurement, nous sommes proposés de déterminer le taux de catécholamines dans les urines de personnes considérées comme normales et saines, c'est-à-dire qui ne présentaient aucune maladie cliniquement ou biologiquement apparente et avec une tension artérielle inférieure à 14 cm Hg de maxima.

Dans les tableaux n° 4 et 5 nous exposons les résultats obtenus.

TABLEAU N° 4. Détermination de catécholamines dans les urines de 24 h de personnes présumées saines.

CAS	DIURESE ml/24 h	EXTRAIT final ml	REACTION avec ml	EXTINCTION	
				pH : 4	pH : 6
1	1 800	20	3	0,0065	0,0229
2	910	20	3	0,0045	0,0150
3	480	20	3	0,0045	0,0329
4	1 030	17,5	2	0,0049	0,0188
5	1 560	18	2	0,0021	0,0156
6	1 145	25	3	0,0034	0,0199
7	940	30	4	0,0043	0,0199
8	1 420	20	3	0,0056	0,0188
9	1 055	21	3	0,0056	0,0168
10	1 030	20	3	0,0058	0,0238

Tableau n° 4 (suite)

CAS	DIURESE ml/24 h	EXTRAIT final ml	REACTION avec ml	EXTINCTION	
				pH : 4	pH : 6
11	1 070	20	3	0,0065	0,0150
12	1 150	20	3	0,0056	0,0145
13	750	20	3	0,0112	0,0326
14	700	22	2	0,0038	0,0087
15	1 055	22	2	0,0021	0,0056
16	1 470	20	3	0,0030	0,0060
17	805	20	2	0,0043	0,0163
18	835	20	2	0,0054	0,0132
19	1 030	20	2	0,0038	0,0141
20	1 005	21	2	0,0091	0,0245
21	800	19	2	0,0030	0,0082
22	935	20	2	0,0054	0,0170
23	975	20	2	0,0027	0,0109
24	1 125	20	2	0,0052	0,0183

En résumant les données des tableaux antérieures nous avons
trouvé les valeurs suivantes :

	<u>Valeurs moyennes</u>	<u>Valeurs par litre d'urine</u>
Diurèse (ml/24 h)	1 047,29	
A _t (ug/24 h)	232,18	221,69
A (ug/24 h)	46,99	44,87
N (ug/24 h)	184,36	176,03
% N	77,89	79,40

TABLEAU N° 5. Catécholamines dans l'urine de 24 heures

de personnes saines

CAS	SEXE	AGE	TENSION ART. (mm Hg)	A ₁ ug/24 h	A ug/ 24 h	N ug/ 24 h	% N
1	M	31	125/74	427,53	87,15	340,38	79,61
2	M	23	116/77	141,31	31,06	109,65	77,69
3	F	20	97/68	204,38	7,89	196,49	96,13
4	M	21	103/70	263,07	47,22	215,85	82,05
5	M	26	112/84	341,27	13,44	327,83	96,06
6	M	29	105/65	351,81	23,43	328,38	93,34
7	M	31	120/80	218,30	28,08	190,22	87,13
8	M	37	135/75	277,76	60,58	216,18	78,11
9	M	42	135/95	192,87	49,85	143,02	74,15
10	M	43	140/86	251,76	40,96	210,80	83,73
11	F	48	92/60	246,81	61,70	185,11	75,00
12	F	25	126/78	247,36	55,06	192,30	77,74
13	F	22	90/60	353,82	68,82	185,50	73,08
14	M	35	94/68	103,82	39,27	64,55	62,17
15	M	14	90/60	101,35	31,14	70,21	69,26
16	M	43	80/65	92,26	40,67	51,59	55,91
17	F	35	132/91	203,25	36,22	167,03	82,17
18	F	24	90/60	171,14	58,49	112,65	65,82
19	F	32	140/89	225,58	42,93	182,65	80,96
20	M	24	120/80	401,51	121,35	280,16	69,77
21	F	28	113/72	104,70	30,50	74,20	70,86
22	F	41	115/74	247,43	59,84	187,59	75,81
23	F	19	95/72	165,26	27,82	137,44	83,16
24	F	43	125/85	319,12	64,22	254,90	79,87

DETERMINATION DE CATECHOLAMINES DANS LES URINES DE 24 HEURES
DE PERSONNES AYANT UNE HYPERTENSION ARTERIELLE

Avant d'exposer les résultats de nos expériences nous devons préciser les faits suivants :

- 1) Toutes les personnes qui se prêtèrent à notre expérience étaient porteuses d'une hypertension artérielle et étaient traitées à titre ambulatoire. Aucune d'elles n'a pas été hospitalisée.
- 2) Pour le ramassage et la conservation des urines nous avons rencontré des difficultés majeures, les malades ne respectant pas les explications données verbalement et par écrit.
- 3) Par souci de précision chaque bouteille portait les règles à respecter sur une étiquette collée. D'autre part, les urines qui, à l'arrivée, présentaient un pH supérieur à 6 ont été éliminées systématiquement.
- 4) En ce qui concerne le diagnostic de H.T.A. il faut préciser qu'un seul des malades présentait une albuminurie oscillant entre 3 et 5 g par litre (cas n° 7). Un autre malade (cas n° 8) a présenté une colique néphrétique 24 heures après l'expérience. Les examens biologiques ainsi que les radiographies pratiquées ne révélèrent aucun signe de lithiase urinaire.

Dans le tableau n° 6 nous exposons les résultats trouvés chez 16 personnes avec H.T.A..

TABLERAU N° 6. Détermination de catécholamines dans les urines de 24 heures chez 16 personnes avec H.T.A.

CAS	SEXE	AGE	T.A. (mm Hg)	Diurèse ml/24 h	A _t ug/24h	A ug/24h	N ug/24h	%N	Années de maladie
1	F	53	230/130	690	160,29	28,57	131,72	82,17	13
2	F	60	220/115	1 235	189,84	52,08	137,76	72,56	1
3	F	53	190/110	1 260	101,05	38,30	62,75	62,09	1
4	F	56	225/100	990	99,99	24,59	75,40	75,41	8
5	F	38	180/100	1 305	217,93	72,43	145,50	66,76	4
6	F	44	190/120	1 500	328,07	59,67	268,40	81,81	5
7	F	53	235/130	1 330	189,35	11,09	178,26	94,14	4
8	F	39	230/110	820	226,21	42,97	183,24	81,00	8
9	F	48	195/125	1 020	295,83	75,72	220,11	74,40	5
10	F	59	230/120	1 240	156,38	67,70	88,68	56,70	3
11	F	50	235/120	1 210	102,51	56,29	46,22	45,08	9
12	F	48	190/100	880	279,09	76,46	202,63	72,60	1
13	F	58	205/110	800	153,60	59,52	94,08	61,25	7
14	F	50	195/115	410	71,13	31,53	39,70	55,67	20
15	M	55	185/105	1 410	233,09	65,80	167,29	71,77	10
16	M	51	230/110	1 225	491,83	79,36	412,47	83,86	3

En résumant les données du tableau antérieur, nous avons :

	<u>Valeurs moyennes</u>	<u>Valeurs par litre d'urine</u>
Diurèse (ml/24 h)	1 082,81	
A _t (ug/24 h)	206,01	190,25
A (ug/24 h)	52,63	46,60
N (ug/24 h)	153,38	141,65
% N	71,08 %	74,45 %

Si nous comparons les valeurs moyennes de catécholamines urinaires observées chez des personnes saines et chez des hyper-tendus, nous avons les résultats suivants (tableaux n° 7, 8 et 9).

TABLEAU N° 7. Comparaison des valeurs moyennes de catécholamines dans l'urine de 24 heures chez des personnes saines et chez des hypertendus.

PERSONNES	CAS	DIURESE ml/24 h	A t ug/24 h	A ug/24 h	N ug/24 h	% N
Saines	24	1 047,29	232,18	46,99	184,36	77,89
H.T.A.	16	1 082,81	206,01	52,63	153,38	71,08

TABLEAU N° 8. Comparaison de valeurs moyennes par litre d'urine de catécholamines chez les personnes saines et chez les hyper-tendus.

PERSONNES	CAS	DIURESE ml	A t ug/ l	A ug/ l	N ug/ l	% N
Saines	24	1 000	221,69	44,87	176,03	79,40
H.T.A.	16	1 000	190,25	48,60	141,65	74,45

Si nous séparons en deux groupes les cas avec une diurèse supérieure à 1 000 ml/24 h et ceux avec une diurèse inférieure à 1 000 ml/24 h, on a le tableau suivant :

PERSONNES	CAS	DIURESE ml/24 h	DIURESE moyenne/24 h	A_t ug/24 h
SAINES	14	supérieure à 1 000 ml	1 210,35	267,07
	10	inférieure à 1 000 ml	819,00	181,30
H.T.A.	10	supérieure à 1 000 ml	1 273,50	230,59
	6	inférieure à 1 000 ml	765,00	165,05

CONCLUSIONS

- 1) Pour déterminer la quantité de catécholamines dans les urines de 24 heures, chez les sujets sains et hypertendus nous avons choisi la méthode de von EULER et HELLNER pour l'extraction des catécholamines et la méthode de von EULER et HAMBERG pour la détermination colorimétrique que nous avons en partie modifiée et adaptée aux exigences de l'expérience.
 - 2) Les valeurs moyennes de catécholamines éliminées par les urines en 24 heures et par litre d'urine sont inférieures chez les sujets hypertendus.
 - 3) Dans tous les cas la quantité de noradrénaline éliminée par 24 heures est plus importante que celle d'adrénaline.
 - 4) De la comparaison des valeurs moyennes de catécholamines excrétées par l'urine en 24 heures chez les personnes saines et hypertendues, il résulte :
 - a - que les sujets sains éliminent une quantité plus importante d'amines totales et de noradrénaline que d'adrénaline.
 - b - que chez les sujets hypertendus l'élimination urinaire de catécholamines est moindre ; cette diminution se faisant surtout aux dépens des amines totales et de la noradrénaline. L'élimination de l'adrénaline, par contre, est augmentée.
- Si, au lieu de comparer les valeurs moyennes, nous considérons les quantités de catécholamines par litre d'urine chez les sujets sains et chez les sujets hypertendus, nous constatons que les différences d'élimination sont encore plus nettes.

5) Ces résultats sont difficilement interprétables, car en dosant l'adrénaline et la noradrénaline on ne dose qu'une faible fraction de l'élimination urinaire globale des amines urinaires catéchiques.

Ces résultats suggèrent une modification quantitative du métabolisme des catécholamines au cours de l'H.I.A. qui reste à préciser par des dosages complémentaires.

6) On peut envisager qu'il existe chez les sujets hypertendus un défaut d'élimination de l'adrénaline et de la noradrénaline au niveau des reins ou un défaut de conjugaison ou de dégradation enzymatique de ces substances dans l'organisme pour des causes encore inconnues.

B I B L I O G R A P H I E

- ALLES W.J., BARCROFT H., et EDHOLM O.G. :
Journal Physiol. 105, 255 - 1956.
- "A SYMPOSIUM ON ESSENTIAL HYPERTENSION - AN EPIDEMIOLOGICAL APPROACH."
Ed. the Commonwealth of Massachusetts, Boston - 1951.
- BACQ Z.M. : Arch. Int. Physiol. 36, 167 - 1933
Ann. Physiol. 10, 467 - 1934
Erg. Physiol. 37, 82 - 1935.
- BACQ Z.M. et FISCHER P. :
Arch. Int. Physiol. 55, 73 - 1947.
- BACQ Z.M. : Ann. Endocrin. 28, 527 - 1967.
- BARCROFT H. et SWAN A.J.C. :
Monograph of the Physiol. Society 1 - 1953.
- BERGSTROM S., EULER U.S. von et HAMBERG U. :
Acta Chim. Scand. 3, 305 - 1949.
- BIANCHI M. et FARGIER M.C. :
Journ. Physiol. 56 (3), 294 - 1964.
- BRUCKE F.T., KAIND F. et MAYER H. :
Arch. Int. Pharmacodyn. 88, 497 - 1952.
- DONNET V. : "Adrénaline et Noradrénaline"
Ed. A. Rousseau, Paris - 1970.
- DUNCANSON D., STEWARD I. et EDHOLM O.C. :
Féd. Proc. 8, 37 - 1949.

EULER U.S. von : Acta Physiol. Scand. 16, 63 - 1948.

EULER U.S. von et HAMBERG U. :

Acta Physiol. Scand. 19, 74 - 1943.

EULER U.S. von : Acta Physiol. Scand. 19, 207 - 1950.

EULER U.S. von et ENGEL A. :

Lancet, 259, 387 - 1950.

EULER U.S. von et HELLNER S. :

Acta Physiol. Scand. 22, 161 - 1951.

FOLKOW B. et EULER U.S. von :

Circulation 2, 3 - 1954.

GOLDENBERG M., PINES K.L., BALDWIN E.F., GREEN D.G. et ROTH C.E. :

Amer. Journ. Méd. 5, 792 - 1948.

GOLDENBERG M., APGAR V., DETERLING R. et PINES K.L. :

Journal Amer. Méd. Assoc. 140, 776 - 1949.

GOLDENBERG M. et RAPPORT M.M. :

Journ. Clin. Invest. 30, 641 - 1951.

GOODALL Ch.Mc. : Acta Physiol. Scand. 20, 137 - 1950.

HOLTZ P., KREDNER K. et KRONEBERG G. :

Arch. Exp. Pharmac. 204, 223 - 1947.

HOLTZ P. et SCHUMANN H.J. :

Schweiz Med. Wochenschr. 79, 252 - 1949.

HILLARP N.A. et HOKFELT B. :

Acta Physiol. Scand. 30,35 - 1953.

- JIMENEZ DIAS : "Algunos problemas de patologia interna" 2 - 1953.
- JUDSON W.E. et Colab. :
J. Clin. Invest. 29, 1 405 - 1950.
- KAPPERT A., SUTTON G.C., REALE A., SKOGLUND K.H. et NYLIN G. :
Acta Cardiologica F-5, 2, 121 - 1950.
- KAPPERT A., REALE A., SKOGLUND C.H. et SUTTON G.S. :
Acta Physiol. Scand. 20, 153 - 1950.
- KRÖNENBERG G. et SCHUMANN J.H. :
Arch. Exp. Path. und Pharmacol. 209, 350 - 1950.
- LABADIE P. : Pathologie et Biologie 2, 1 235 - 1960-1968.
- LEVY J. : Thérapie 16, 421 - 1961.
- LUNDHOLM L. : Acta Physiol. Scand. 21, 195 - 1950.
- MALMEJAC J. : "Conceptions actuelles sur l'activité médullo-surrénales"
Colloque d'Endocrinologie, Ed. Masson et Cie - 1954.
- MORIN G. : Marseille Médical 9, 597 - 1957.
- NUZUM F.R. et BISCHOFF F. :
Circulation 12, 96 - 1953.
- RAAB W. et GIGEE W. :
Circulation 9, 4 - 1954.
- ROTARU C. : Boletin Inst. Pat. Méd. 13, 9 - 1958.
- "REARGON" : Schering, Feuillelet documentaire Maison Schering - 1953.

SCHWARTZ J., BLOCH R. et VELLY J. :

Ann. Biol. Clin. 5-6, 753 - 1965.

TAMARIT J. et ROTARU C. :

"Adrenalina et noradrenalina en extractos de glandulas
suprarrenales de algunos animales de laboratorio".

Comm. 3ème Réunion Nat. Soc. Esp. de Sc. Physiol. - 1956.

TAMARIT J. : Ann. Inst. Farm. Espanola 8, 193 - 1954.

WEIL-MALHERBE H. et BONE A.D. :

Biochem.J. 58, 132 - 1954.

Lancet 264, 934 - 1953.

WEST G.B. : J. Physiol. 106, 418 - 1947.

WEST G.B., SHEPHERD D.M. et HUNTER R.B. :

Lancet 261, 966 - 1951.

